

**EKSTRAK METANOL DAUN KERSEN (*Muntingia calabura L*) SEBAGAI
ANTIMIKROBA ALAMI TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* PENYEBAB
MASTITIS SUBKLINIS PADA SAPI PERAH**

Happy Aprillia Mahardika, Sarwiyono dan Puguh Surjowardojo
Bagian Produksi Ternak, Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya
E-mail : happypinky_girl@yahoo.co.id

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Bakteriologi, Jurusan Hama dan Penyakit Tanaman Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya Malang. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh ekstrak metanol daun kersen (*Muntingia calabura L*) terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* penyebab mastitis subklinis pada sapi perah. Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus*, ekstrak metanol daun kersen, dekok daun kersen dan larutan iodips. Metode yang digunakan dalam penelitian ini merupakan penelitian percobaan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan dan 4 ulangan menggunakan metode sumuran. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun kersen dengan konsentrasi 10%, 20%, 30% dan 40% memiliki pengaruh terhadap daya hambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Ekstrak metanol daun kersen tidak memiliki perbedaan yang nyata ($P > 0,05$) dengan larutan iodips dan dekok daun kersen sebagai pembanding, sehingga ekstrak metanol daun kersen dapat digunakan sebagai antimikroba alami untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* penyebab mastitis subklinis.

Kata kunci: daun kersen, ekstrak metanol, *Staphylococcus aureus* dan mastitis

**CHERRY (*Muntingia calabura L*) LEAF METHANOL EXTRACT AS A NATURAL
ANTIMICROBIAL AGAINST *Staphylococcus aureus* BACTERIA CAUSING
SUBCLINICAL MASTITIS**

ABSTRACT

This research was conducted in the laboratory of Bacteriology, Faculty of Agriculture, University of Brawijaya Malang. The purpose of this study is to determine the effect of cherry leaf methanol extract on the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria causing subclinical mastitis in dairy cows. Materials used in this research were *Staphylococcus aureus*, cherry leaf methanol extract, cherry leaf water extract and iodips. The method used in this research is experiment with a completely randomized design (CRD) with 6 treatments and 4 replications. The results showed that the cherry leaf methanol extract, with a concentration of 10%, 20%, 30% and 40% have an influence on the growth inhibitory *Staphylococcus aureus*. Cherry leaf methanol extract has no significant difference ($P > 0.05$) with a cherry leaf water extract and iodips as antimicrobial substances, so it can be used as a natural antimicrobial substance to inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria causing subclinical mastitis.

Key word : cherry leaf, methanol extract, *Staphylococcus aureus* and mastitis

PENDAHULUAN

Kebutuhan susu di Indonesia hanya mampu terpenuhi sebanyak 30% dikarenakan sapi di Indonesia mengalami penurunan produksi susu. Turunnya produksi susu dapat disebabkan oleh faktor internal dan faktor eksternal. Faktor internal meliputi bangsa, individu, hormonal, umur laktasi, siklus estrus dan kebuntingan. Faktor eksternal meliputi frekuensi pemerahan, obat, pakan dan penyakit.

Salah satu penghambat peningkatan produksi susu adalah penyakit yang secara langsung maupun tidak langsung dapat menurunkan produksi susu. Penyakit radang ambing yang dikenal sebagai mastitis merupakan masalah utama dalam tata laksana usaha peternakan sapi perah yang sangat merugikan, baik peternak sapi perah, industri pengolahan susu dan konsumen (Sudarwanto dan Sudarnika, 2008).

Kasus mastitis terutama mastitis subklinis di Indonesia sampai akhir tahun 2006 tercatat sekitar 75–83%. Kerugian ekonomi yang diakibatkan mastitis antara lain penurunan produksi susu per kwartir per hari (9 sampai 45,5%), penurunan kualitas susu yang mengakibatkan penolakan susu mencapai 30 sampai 40% dan penurunan kualitas hasil olahan susu dan peningkatan biaya perawatan dan pengobatan serta pengafkiran ternak lebih awal (Sudarwanto dan Sudarnika, 2008). Setiawan, Trisunuwati dan Sunarso (2013) melaporkan bahwa kejadian terbesar dari kasus mastitis adalah mastitis subklinis, dengan tingkat kejadian dapat mencapai 90% yang disertai dengan penurunan produksi susu hingga 30%. Mastitis disebabkan hampir 95% oleh mikroorganisme yang berasal dari spesies *Streptococcus* dan *Staphylococci* (Aulia, 2008).

Staphylococcus aureus adalah bakteri gram positif yang menghasilkan pigmen kuning, bersifat aerob fakultatif, tidak menghasilkan spora dan tidak motil,

umumnya tumbuh berpasangan maupun berkelompok, dengan diameter sekitar 0,8-1,0 μm . *Staphylococcus aureus* bebrbentuk bulat seperti anggur yang bergerombol tidak teratur (Kusuma, 2009). *Staphylococcus aureus* merupakan patogen penting pada manusia yang dapat menimbulkan berbagai kasus penyakit seperti infeksi kulit, keracunan makanan, endokarditis, pneumonia, osteomiolitis, sepsis arthritis dan encephalitis. *Staphylococcus aureus* dapat ditemukan di lingkungan masyarakat seperti udara, debu, kotoran, air, susu, makanan, tempat makan, manusia dan hewan. Manusia dan hewan merupakan tempat berkumpulnya bakteri tersebut. Kebanyakan pada individu yang sehat *Staphylococcus aureus* dapat ditemukan dalam saluran pernafasan, rambut dan kulit (Salisia dan Sugiyono, 2009).

Kersen merupakan pohon yang sering ditemui dipinggir jalan. Daun kersen banyak digunakan obat tradisional. Daun kersen mempunyai khasiat sebagai penurun panas, sebagai antiradang bahkan sebagai antimikroba yang berbahaya dan dapat digunakan sebagai antiseptik alami. Noorhamdani, Yosef dan Rosalia (2014) menyebutkan bahwa daun kersen mempunyai fungsi sebagai antipiretik dan antiinflamasi. Aktifitas antibakteri yang dimiliki daun kersen karena daun kersen mengandung *flavonoid*, *saponin* dan *tanin* (Kurniawan, Sarwiyono dan Surjowardojo, 2013).

METODE PENELITIAN

Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan selama satu bulan, yaitu bulan Januari sampai bulan Februari di Laboratorium Bakteriologi, Jurusan Hama dan Penyakit Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang untuk pembiakan bakteri *Staphylococcus aureus*, penanaman dan

pengujian daya hambat bakteri *Staphylococcus aureus*.

Materi

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Staphylococcus aureus* stok biakan dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, daun kersen (*Muntingia calabura L*) yang diperoleh disekitar perumahan Joyogrand Malang, ekstrak metanol daun kersen berbagai konsentrasi dan lauratan Iodips yang diperoleh dari Koperasi Agro Niaga (KAN) Jabung Malang. Alat yang digunakan adalah timbangan analitik, cawan petri, tabung reaksi, tabung erlenmayer, ose, bunsen, glass L, rotary evaporator, jangka sorong, autoklaf, kertas label, gunting, inkubasi shaker, mikro pipet, alumunium foil. Bahan yang digunakan adalah media biakan *Natrient Agar* (NA), *Mannitol Salt Agar* (MSA), spirtus, aquadest dan alkohol 70%.

Metode

Metode yang digunakan adalah percobaan dengan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan dan 4 ulangan sebagai berikut P₁ (ekstrak metanol daun kersen 10%), P₂ (ekstrak metanol daun kersen 20%), P₃ (ekstrak metanol 30%), P₄ (ekstrak metanol daun kersen 40%), P₅ (dekok daun kersen 20%) sebagai kontrol dan P₆ (larutan Iodips 10%) sebagai kontrol.

Prosedur Penelitian

Pembuatan Serbuk daun Kersen

Prosedur pembuatan serbuk daun kersen adalah sebagai berikut:

1. Daun kersen yang sudah diambil dilayukan dan di oven dengan suhu 60°C selama 24 jam
2. Dihaluskan dengan grinder.
3. Ditimbang.

Prosedur Ekstraksi dengan Metode Maserasi

Serbuk daun kersen diambil sebanyak 150 g dan dicampur dengan metanol sebanyak 600 ml dan di aduk sampai homogen menggunakan alat inkubasi shaker selama 1 jam dengan kecepatan 120 rpm/s kemudian didiamkan selama 24 jam dan diulang sebanyak 5 kali. Larutan ekstrak daun kersen disaring menggunakan kertas saring *whatman grade 42*. Filtrat ekstrak metanol daun kersen dipisahkan dengan menggunakan alat *rotary evaporator* dan ditimbang. Ekstrak pekat daun kersen yang diperoleh digunakan sebagai uji antibakteri.

Prosedur Pembuatan Dekok Daun Kersen 20%

Prosedur pembuatan dekok daun kersen 20% yaitu :

1. Daun kersen sebanyak 200 g dicuci dahulu sampai bersih kemudian ditiriskan
2. Daun kersen yang sudah dicuci dipotong kecil kecil atau dicincang
3. Kemudian direbus dengan air mendidih sebanyak 800 ml selama 15 menit
4. Setelah 15 menit didinginkan
5. Setelah dingin digunakan sebagai uji antibakteri (Kurniawan, dkk. 2013).

Prosedur Pembuatan Uji Antibakteri

Prosedur pembuatan uji antibakteri adalah sebagai berikut :

1. Ekstrak metanol daun kersen 10% = ekstrak daun kersen 1 g + 9 ml aquadest steril
2. Ekstrak metanol daun kersen 20% = ekstrak daun kersen 2 g + 8 ml aquadest steril
3. Ekstrak metanol daun kersen 30% = ekstrak daun kersen 3 g + 7 ml aquadest steril
4. Ekstrak metanol daun kersen 40% = ekstrak daun kersen 4 g + 6 ml aquadest steril

5. Iodips 10% = 1 ml iodips + 9 ml aquadest steril
6. Dekok daun kersen 20% = 200 g daun kersen segar + 800 ml air

Prosedur Pembuatan Media

Pembuatan Media NA

Prosedur pembuatan Media NA menurut Purwandani (2008) adalah sebagai berikut:

- a. Timbang kurang lebih 2,8 g/ 100 ml *nutrient agar*
- b. Masukkan ke dalam gelas kimia 250 ml
- c. Kemudian ditambahkan aquades 500 ml kocok dan panaskan hingga larut
- d. Sterilisasi di autoklaf selama 15 menit pada suhu 121^o C
- e. Dituang pada cawan petri ± 20 ml dan dibiarkan hingga dingin dan membentuk gel.

Pembuatan media MSA

Menurut Rahmawati (2013), bahan yang digunakan terdiri dari 10 g pepton, 10 g manitol, 15 g agar 75 g sodium klorida 0,25 phenol red dan 500 ml aquades.

Cara pembuatannya adalah :

- a. Semua bahan dicampur dan ditambahkan dengan aquades 500 ml kemudian dipanaskan hingga mendidih dan homogen
- b. Ditambahkan aquades sehingga volume mencapai 1000 ml kemudian dimasukkan ke dalam tabung atau botol yang steril
- c. Disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121^o C dengan tekanan 2 atm selama 1 jam.
- d. Dituang pada cawan petri ± 20 ml dan dibiarkan hingga membentuk gel.

Proses Identifikasi bakteri *S. aureus*

Sebelum digunakan dalam penelitian, *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari Fakultas Kedokteran diidentifikasi ulang.

Identifikasi yang dilakukan meliputi pewarnaan gram dan pewarnaan pada media *Natrium Agar* (NA). Metode pewarnaan gram menurut Lestari (2013) yaitu :

- a. Preparat glass dibersihkan dengan alkohol dan tisu
- b. Panaskan ose untuk mengambil bakteri dan letakan pada preparat glass dan ratakan
- c. Tetesi dengan methylen blue sebanyak 1-2 tetes dan tunggu 1 menit
- d. Cuci dengan air mengalir dan keringkan lagi
- e. Tetesi dengan iodine sebanyak 1-2 tetes dan tunggu 1 menit
- f. Cuci dengan air mengalir dan keringkan
- g. Tetesei dengan etanol dan tunggu 30 detik
- h. Cuci dengan air mengalir dan keringkan
- i. Tetesi dengan safranin 1-2 tetes dan tunggu 2 menit
- j. Cuci dengan air mengalir dan keringkan
- k. Diamati dengan mikroskop.

Peremajaan Biakan Murni

Biakan murni bakteri diremajakan pada media padat *plate agar* dengan cara menggoreskan jarum ose yang mengandung bakteri *Staphylococcus aureus* secara aseptis yaitu dengan mendekatkan cawan petri pada bunsen yang menyala saat menggoreskan jarum ose, kemudian ditutup kembali dan di *wrapping* dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam.

Pembuatan Media Aktif

Hasil dari peremajaan biakan murni bakteri dipanen dengan 5 ml aquades steril dan dihomogenkan keseluruhan lapisan atas media. Larutan ini berfungsi sebagai media aktif.

Uji Antibakteri

Media padat MSA yang sudah menjadi gel di cawan petri ditetesi media aktif sebanyak 0,1 ml dengan menggunakan

mikropipet kemudian dihomogenkan dengan glass L, permukaan MSA dilubangi dengan *cork borer* dengan diameter 6 mm, kemudian lubang tersebut ditetesi dengan kontrol (dekok dan iodips) dan ekstrak metanol daun kersen masing-masing sebanyak 50 ul. Media bakteri yang sudah ditetesi bahan antibakteri diwrapping dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Diameter zona hambat yang terbentuk diukur dengan jangka sorong untuk menentukan efektifitas antibakteri. Uji antibakteri dilakukan untuk mengetahui ekstrak terbaik.

Tabel 1. Kategori penghambatan antimikroba berdasarkan zona bening.

Diameter (mm)	Respon Hambatan Pertumbuhan
> 20	Sangat kuat
10-20	Kuat
5-10	Sedang
<5	Lemah

Sumber: Ardiansyah (2005) ; Lathifah (2008)

Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah :

Variable bebas: konsentrasi ekstrak daun kersen.

Variable terikat: zona hambat yang diamati.

Analisis Data

Penelitian ini menggunakan 6 perlakuan dan 4 ulangan, rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Data yang diperoleh diuji dengan uji sidik ragam anova tunggal.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang nyata ($P > 0,05$) pada setiap konsentrasi ekstrak

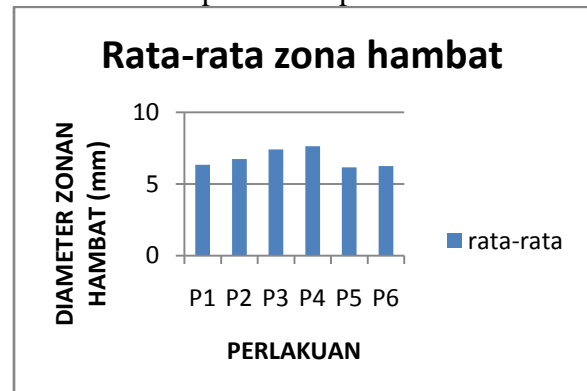
metanol daun kersen berbagai konsentrasi, dekok daun kersen dan iodips sebagai antiseptik kimia dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Rataan hasil pengukuran zona hambat daun kersen dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rataan diameter zona hambat daun kersen

Perlakuan	Ulangan				Jumlah	Rataan
	U1	U2	U3	U4		
P1	5,06	6,61	6,20	7,50	25,37	6,34
P2	6,42	8,08	6,12	6,33	26,95	6,73
P3	8,12	7,56	6,61	7,40	29,69	7,42
P4	6,60	7,11	8,73	8,11	30,55	7,63
P5 dekok	6,04	5,57	6,21	6,87	24,69	6,17
P6 iodips	7,13	6,19	6,43	5,26	25,01	6,25

Berdasarkan tabel diatas hasil pengukuran rata-rata diameter zona hambat pada perlakuan ekstrak metanol daun kersen 10% adalah 6,34 mm, perlakuan ekstrak metanol daun kersen 20% adalah 6,73 mm, perlakuan ekstrak metanol daun kersen 30% 7,42 mm, ekstrak metanol daun kersen 40% adalah 7,63%, dekok daun kersen 30% adalah 6,17 mm dan iodips dengan konsentrasi 10% adalah 6,25 mm.

Grafik zona hambat ekstrak metanol daun kersen dapat dilihat pada Gambar 1



Gambar 1. Grafik zona hambat ekstrak metanol daun kersen

Gambar 1 menunjukkan bahwa ekstrak daun kersen dengan konsentrasi tertinggi juga mempunyai daya hambat yang tinggi, ekstrak metanol daun kersen 40% memiliki diameter 7,63 mm lebih tinggi dibandingkan diameter ekstrak metanol daun

kersen dengan konsentrasi 30%, 20% 10%, dekok 20% dan iodips berturut-turut yaitu 7,42 mm, 6,73 mm, 6,34 mm, 6,17 mm dan 6,25 mm. Data diatas menunjukkan bahwa P1 sampai dengan P6 mempunyai kekuatan sedang dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Semakin tinggi ekstrak daun kersen, semakin tinggi daya hambat yang dihasilkan. Sesuai dengan pendapat Noorhamdani, Yosef dan Rosalia (2013) bahwa pemberian ekstrak daun kersen menyebabkan penurunan jumlah bakteri yang tumbuh pada media MSA secara signifikan. Pertumbuhan bakteri terhambat karena ekstrak daun kersen yang mengandung senyawa aktif yaitu *flavonoid* sebagai antimikroba yang mampu merusak membran bakteri *Staphylococcus aureus* sehingga bakteri tersebut tidak dapat hidup.

Mekanisme daya kerja antimikroba terhadap sel dapat adalah merusak dinding sel, mengganggu permeabilitas sel, merusak molekul protein dan asam nukleat, menghambat aktifitas enzim, menghambat sintesa asam nukleat. Pernyataan diatas sesuai dengan Lathifah (2008) bahwa antimikroba diartikan sebagai bahan yang dapat mengganggu pertumbuhan dan metabolisme bakteri. Cara kerja antimikroba antara lain dengan merusak dinding sel, merubah permeabilitas sel, menghambat kerja enzim, merubah molekul protein dan asam nukleat, serta menghambat sintesis asam nukleat dan protein. Sedangkan mekanisme daya kerja antiseptik terhadap mikroorganisme berbeda-beda misalnya dengan cara mendehidrasi atau mengeringkan bakteri, mengoksidasi sel bakteri, mengkoagulasi (menggumpalkan) cairan disekitar bakteri atau meracuni bakteri. Iodips adalah termasuk golongan antiseptik karena mempunyai kandungan iodine aktif. Romadlona, Sarwiyono dan Surjowardojo (2014) melaporkan bahwa kandungan yang terdapat dalam Iodips

adalah iodine aktif, phosphor aktif, sorbitoscrub dan asam laktat.

Prawira, dkk (2013) melaporkan bahwa *saponin* dapat menekan pertumbuhan dari bakteri karena senyawa tersebut dapat menurunkan tegangan permukaan dinding sel dan apabila berinteraksi dinding sel tersebut bisa lisis atau pecah, sehingga saponin akan mengganggu tegangan permukaan dinding sel dan zat antibakteri akan masuk dengan mudah ke dalam sel dan akan mengganggu metabolisme sel hingga akhirnya bakteri mati.

Flavonoid memberikan aktifitas antibakteri dengan jalan menghambat metabolisme energi, mekanisme penghambatan metabolisme energi yang dilakukan oleh *flavonoid* yaitu seperti antibiotik yang menghambat respirasi oksigen dan dapat menyebabkan kematian bakteri (Noorhamdani, dkk 2014). *Flavonoid* merupakan senyawa yang bersifat desinfektan yang bekerja mendenaturasi protein yang dapat menyebabkan aktifitas metabolisme sel berhenti (Kurniawan, dkk 2013).

Tanin dapat menghambat aktifitas enzim protease, menghambat enzim pada transport selubung sel bakteri, destruksi atau inaktifasi fungsi materi genetik, selain itu *tanin* juga mampu mengerutkan dinding sel bakteri sehingga dapat mengganggu permeabilitas sel. Terganggunya permeabilitas sel dapat menyebabkan sel tersebut tidak dapat melakukan aktifitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat (Maliana, Khotimah dan Diba, 2013)

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang sudah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol daun kersen dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* penyebab mastitis subklinis pada sapi perah. Semakin tinggi konsentrasi

ekstrak metanol daun kersen maka daya hambat yang diperoleh juga semakin tinggi.

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan disarankan bahwa untuk penerapan dapat menggunakan ekstrak metanol daun kersen 10% untuk *teat dipping* pada kondisi lapang.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Bapak Ir. Sarwiyono, M.Agr. St., Bapak Dr. Ir Puguh Surjowardojo MS, dan Bapak Aswah Ridhowi, S.Pt., M.Sc atas bimbingan dari awal sampai akhir penelitian ini, dan teman-teman kelompok penelitian Imro'atul Khasanah, Iwan Kasogi dan Eny Sholikhatin atas kekompakan dan kerja sama dalam pelaksanaan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

Aulia, S. 2008. Hubungan Antara Mastitis dengan Kandungan Kadar Garam (NaCl) pada Susu Sapi Perah KUTT Suka Makmur. Jurusan Produksi Ternak. Fakultas Peternakan. Universitas Brawijaya. Malang

Kurniawan, I., Sarwiyono dan Surjowardojo, P. 2013. Pengaruh *Teat Dipping* Menggunakan Dekok Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) Terhadap Tingkat Kejadian Mastitis. Program Studi Produksi Peternakan. Fakultas Peternakan. Universitas Brawijaya. Malang

Kusuma, S. 2009. *Staphylococcus aureus*. Fakultas Farmasi. Universitas Padjajaran. Bandung

Lathifah, Q. 2008. Uji Efektifitas Ekstrak Kasar Senyawa Antibakteri Pada Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dengan Variasi Pelarut. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan

Teknologi. Universitas Islam Negeri (UIN) Malang

Lestari, R. 2013. Pewarnaan Sederhana, Negatif, Kapsul dan Gram. Program Studi D3 Kebidanan. Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan. Yogyakarta

Maliana, Y., Khotimah, S dan Diba, FS. 2013. Aktifitas Antibakteri Kulit *Garcinia mangostana Linn.* Terhadap Pertumbuhan *Flavobacterium* dan *Enterobacter* dari *Coptotermes curvignathus* Holmgren. Program Studi Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Tanjungpura. Pontinak. Jurnal Protabiont Vol 2 (1): 7-11

Noorhamdani, Yosef dan Rosalia. 2014. Uji Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*) Sebagai Antibakteri Terhadap Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Secara *in Vitro*. Laboratorium Fakultas Kedokteran. Universitas Brawijaya. Malang

Prawira, M., Sarwiyono dan Surjowardojo, P. 2013. Daya Hambat Dekok Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Penyebab Penyakit Mastitis pada Sapi Perah. Program Studi Produksi Ternak. Fakultas Peternakan. Universitas Brawijaya. Malang

Purwandani, L. 2008. Isolasi dan Uji Aktifitas Enzim Amilase dari Isolat Bakteri Termofilik Pasca Erupsi Merapi Pada Berbagai Variasi suhu dan pH. Program Studi Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Yogyakarta

Rahmawati, DN. 2013. Media-Bakteri. Jurusan Analis Kesehatan. Poltekkes Kemenkes. Surabaya

- Romadlona, H., Sarwiyono dan Surjowardojo, P. 2014. Daya Hambat Dekok Daun Kersen (*Muntingia calabura L*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Gram Positif-Negatif *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* Penyebab Penyakit Mastitis Subklinis pada Sapi Perah. Program Studi Produksi Ternak. Fakultas Peternakan. Universitas Brawijaya. Malang
- Salisia, S., Khusnan dan Sugiyono. 2009. Distribusi Gen Enterotoksin *Staphylococcus aureus* dari Susu Segar dan Pangan Asal Hewan. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. Vol. 10 No. 3 : 111-117
- Setiawan, Trisunuwati, P dan Sunarso. 2013. Kajian Sensitivitas dan Spesifisitas Reagen CMT, WST dan SFMT Sebagai Bahan Uji Mastitis Subklinis di Peternakan Sapi Perah Rakyat, KUD Sumber Makmur Ngantang. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya. Malang
- Sudarwanto, M dan Sudarnika. 2008. Nilai Diagnostik Tes IPB Mastitis Dibandingkan dengan Jumlah Sel Somatik dalam Susu. Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner. Fakultas Kedokteran Hewan-Institut Pertanian. Bogor